



SCREENING DELLE ANEUPLOIDIE

G. Pilu

Le aneuploidie sono anomalie numeriche dei cromosomi che hanno gravi ricadute sullo sviluppo dell'embrione, possono determinare aborto, morte perinatale e un ampio spettro di anomalie anatomiche e/o funzionali.

Le forme più comuni comprendono le trisomie autosomiche, tra cui soprattutto la trisomia 21 (sindrome di Down), trisomia 13 e 18, e la monosomia X o sindrome di Turner. Molte aneuploidie sono letali nel corso della vita intrauterina. La frequenza materna ha una influenza maggiore perlomeno per le trisomie autosomiche (Figura 1 e Tabella 1).

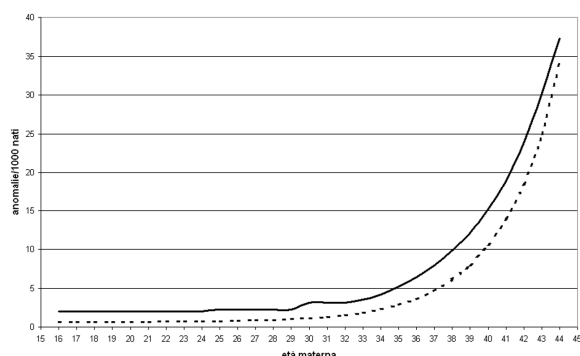


Figura 1. Frequenza di tutte le aneuploidie (linea continua) della trisomia 21 (linea tratteggiata) in funzione della età materna

Età materna	Trisomia 21 (1:*)	Tutte le aneuploidie (1:*)
16	1508	500
17	1508	500
18	1508	500
19	1508	500
20	1508	500
21	1487	500
22	1456	500
23	1428	500
24	1394	500
25	1333	455
26	1269	455
27	1190	455
28	1096	455
29	974	455
30	885	323
31	765	323
32	651	323
33	540	286
34	438	238
35	351	192
36	277	156
37	215	127
38	165	102
39	126	83
40	95	66
41	72	53
42	54	42
43	40	33
44	29	27
45	29	21
46	29	17

Tabella 1: Rischio di trisomia 21 e di tutte le anomalie cromosomiche in funzione della età materna al momento del parto

Lo screening prenatale delle aneuploidie è da molto tempo parte integrante della assistenza prenatale. Perlomeno dagli anni '70 viene raccomandato ai ginecologi di discutere sulla opportunità di una diagnosi prenatale invasiva (amniocentesi o prelievo dei villi coriali) quando esistono fattori di rischio specifici, come ad esempio figli precedenti affetti o età materna



avanzata (tradizionalmente, 35-37 anni o più). A partire dagli anni '80 sono stati identificati ulteriori fattori di rischio. Le prime segnalazioni riguardano la dimostrazione di valori ridotti di alfafetoproteina materna (1) e la visualizzazione ecografica di un ispessimento dei tessuti molli retronucali.(2) Il corredo dei marcatori biochimici ed ecografici si è arricchito nel tempo e si è diffuso il concetto che sia ragionevole offrire a tutte le pazienti, indipendentemente dall'età, una procedura efficace per la quantificazione del rischio basata su una serie di variabili ecografiche e/o biochimiche. La selezione delle pazienti da inviare alla diagnosi invasiva è auspicabile anche per un altro motivo. Nei paesi sviluppati

l'età media delle partorienti è aumentata nel corso degli ultimi 20 anni. In molti paesi europei la proporzione di gravide di 35 o più anni è passata dal 5% al 15% e proporre procedure invasive costose e con qualche se pur piccolo rischio fetale ad una proporzione tanto elevata della popolazione ostetrica comporta problemi di varia natura. Il panorama dei test disponibili per la quantificazione del rischio fetale è variegato. Test biochimici e test ecografici sono stati per lungo tempo in competizione. Al momento in cui si scrive, è opinione diffusa che i risultati migliori vengono ottenuti da una combinazione delle due metodiche. Le modalità dei test sono tuttavia variabili, e la terminologia è spesso motivo di confusione (tabella 2).

Termine	descrizione
Tri-test o triplo test	Calcolo del rischio di trisomie autosomiche che utilizza come variabili l'età materna e il dosaggio sul sangue materno di AFP, hCG e uE3 intorno a 16 settimane
Quadruplo test	Come il tri-test con aggiunta di inibina A
Bi-test	Calcolo del rischio di trisomie autosomiche che utilizza come variabili l'età materna e il dosaggio sul sangue materno di hCG e PAPP-A a 9-13 settimane
Ecografia genetica	Calcolo del rischio di trisomia 21 che utilizza come variabili l'età materna e il riscontro ecografico di malformazioni e varianti anatomiche
Soft markers	Reperti ecografici di varianti anatomiche non patologiche di frequente riscontro nei feti con trisomia 21
Test combinato	Calcolo del rischio di trisomie autosomiche che utilizza come variabili l'età materna, la misurazione della traslucenza nucale e il dosaggio sul sangue materno di hCG e PAPP-A a 11-13 settimane
Test integrato	Calcolo del rischio di trisomie autosomiche che utilizza come variabili l'età materna, la misurazione della traslucenza nucale a 11-13 settimane e il dosaggio differito sul sangue materno di AFP, hCG e uE3 (ed eventualmente di inibina-A) intorno a 16 settimane
Test sequenziale	Come il test combinato; le pazienti con rischio elevato vengono indirizzate al prelievo dei villi coriali; le pazienti con rischio basso vengono sottoposte a test integrato
Test contingente	Come il test sequenziale; le pazienti con rischio basso sono divise in due gruppi, quelle con rischio molto basso non ricevono nessun ulteriore test, quelle con rischio intermedio vengono sottoposte a test integrato

Tabella 2. Termini comunemente impiegati nelle procedure di screening delle aneuploidie fetali

Lo scenario è comunque in continua evoluzione e non è semplice orientarsi. Per confrontare i differenti test è uso comune fare riferimento alla sensibilità della metodica (nella letteratura anglosassone indicata spesso come *detection rate*) e al tasso di falsi positivi (termine con il quale si indicano i casi che risultano positivi allo

screening e che quindi sarebbe ragionevole inviare alla diagnosi invasiva). Di solito, viene stabilita una soglia che consenta un tasso ragionevolmente basso di falsi positivi (per lo più circa il 5%). Ad esempio, se si vuole usare l'età materna come sistema principale di quantificazione del rischio, una paziente di 35



anni ha un rischio che il feto sia affetto da sindrome di Down di 1:350; se si decide di inviare alla diagnosi invasiva tutte le pazienti di 35 anni o più, ne consegue che il tasso di falsi positivi è di circa il 15% e la sensibilità circa il 50%. Un problema contingente è comunque rappresentato dal fatto che per un serie di ragioni (la precisione nel rilevamento dei parametri ecografici o nella determinazione degli analiti non è sempre la stessa in tutti i laboratori, le simulazioni statistiche non sono sempre applicabili con precisione alla popolazione generale) la resa finale dei programmi di screening applicati alla popolazione generale è spesso inferiore rispetto a quella che viene riportata negli studi iniziali, che vengono di solito effettuati in centri di eccellenza. Infine, l'utilizzo sistematico di biotecnologie sofisticate sulla popolazione generale comporta problematiche etiche ancora irrisolte, che comprendono soprattutto la valenza morale di uno screening sistematico delle anomalie congenite, e l'incerto livello di comprensione del processo da parte delle pazienti.(3)

Test biochimici

Risale ai primi anni '80 la dimostrazione di un rapporto tra bassi livelli di alfafetoproteina (AFP) nel sangue materno, trisomia 21 e altre severe aneuploidie fetali.(1) In seguito, è stata dimostrata una correlazione con altri analiti del sangue materno. Per molti anni, la quantificazione del rischio di trisomia 21 in molti paesi europei è stata prevalentemente basata sulla combinazione di età materna e dosaggio di AFP, gonadotropina corionica (hCG) e estriolo non coniugato (uE3) intorno alla 16^a settimana di gravidanza (c.d. *triplo test*). Ad un tasso di falsi positivi del 5%, questo consente di identificare poco meno del 60% dei casi con trisomia 21. Aggiungendo un quarto analita (*quadruplo test*), la inibina A, la sensibilità raggiunge il 65%. (4)

Usando una differente batteria di analiti, tra cui soprattutto la subunità beta libera della hCG (□hCG libera), e la *pregnancy-associated*

protein A (PAPP-A) è possibile predire le aneuploidie fetali severe nel primo trimestre, con una resa analoga a quella del quadruplo test nel secondo trimestre (5) Di recente è stato proposto l'impiego di un ulteriore analita, la A Disintegrin And Metalloprotease 12 (ADAM 12), che consentirebbe di ottenere una precisione particolarmente elevata.(6)

Test ecografici

Ecografia genetica del secondo trimestre

Dopo la segnalazione iniziale di un aumento dello spessore dei tessuti molli retronucali (o plica nucale) nei feti con sindromi di Down,(2) sono stati descritti e proposti numerosi altri reperti ecografici potenzialmente utili per il depistaggio di questa anomalia. La letteratura scientifica al proposito è multiforme, spesso contraddittoria e al meglio di incerta interpretazione. Sono stati compiuti tentativi di razionalizzazione, ed è stato proposto un sistema di calcolo del rischio di trisomia 21 nei feti di 16-22 settimane, utilizzando oltre all'età materna la assenza/presenza di malformazione fetali, oppure di tipiche varianti anatomiche, come plica nucale ispessita, iperecogenicità intestinale o ipoplasia dell'osso nasale (Figura 2).(7) La reale efficacia di questo approccio resta comunque da dimostrare praticamente, anche tenendo conto del variabile livello di esperienza e strumentazione con cui vengono eseguite le ecografie ostetriche. L'indagine è spesso definita, per quanto impropriamente, *ecografia genetica* ed ha una sensibilità limitata, presumibilmente inferiore rispetto a quella delle metodiche biochimiche. L'utilizzo sembra giustificato in centri di riconosciuta competenza, per le pazienti che desiderano avere un inquadramento del rischio di trisomia 21 ma non possono usufruire di metodiche più precise. L'incertezza riguarda il comportamento che dovrebbe essere tenuto quando nel corso di un esame ecografico di routine in una paziente priva di particolari fattori di rischio si incontra casualmente una variante anatomica di per sé priva di significato patologico ma potenzialmente associata a trisomia 21.(3, 8)

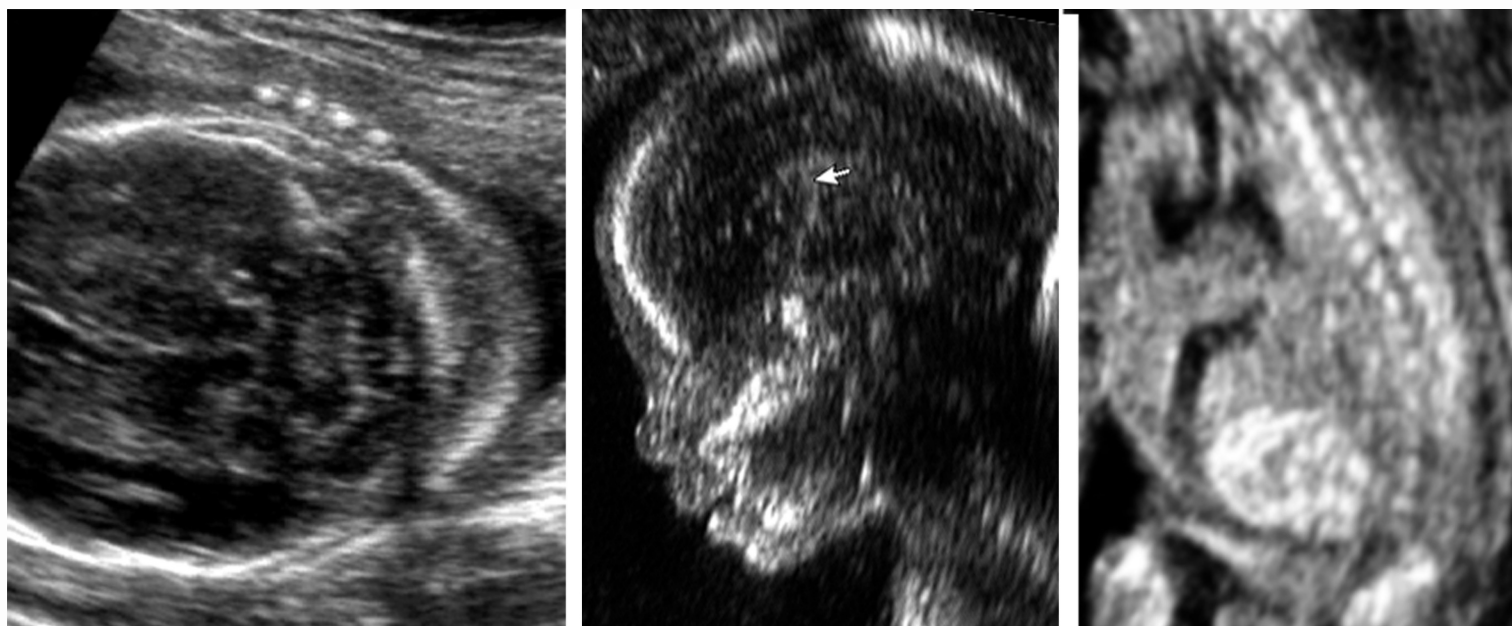


Figura 2: dimostrazione ecografica di varianti anatomiche fetali potenzialmente associate a trisomia 21. Da sinistra a destra plica nucale ispessita, assenza dell'osso nasale, iperecogenicità intestinale



Figura 3. Traslucenza nucale: da sinistra a destra, normale (1,5 mm e aumentata (3,5 mm)

La traslucenza nucale. Il termine traslucenza nucale indica un'area anecogena normalmente presente nella nuca fetale a cavallo tra il primo

e il secondo trimestre di gravidanza, dovuta probabilmente alla imbibizione dei tessuti molli



del collo (Figura 3). Lo spessore della traslucenza aumenta nelle prime settimane di gravidanza per ridursi fino a scomparire dopo la quattordicesima settimana di gestazione.

Anche se non si conoscono con certezza le basi fisiopatologiche, i feti con vari tipi di patologie, tra cui soprattutto anomalie cromosomiche, strutturali, sindromi genetiche e non, presentano spesso un incremento della traslucenza. I dati disponibili che provengono da diversi centri indipendenti suggeriscono che utilizzando una combinazione di traslucenza nucale e età materna è possibile calcolare il rischio di trisomia 21 in maniera tanto efficiente quanto i test

biochimici. Un ampio studio multicentrico che ha esaminato prospettivamente oltre 100.000 gravidanze ha dimostrato che per una percentuale di falsi positivi del 5%, la sensibilità era del 77% (con un intervallo di confidenza al 95% di 72–82%).(9)

Il problema principale è rappresentato dalle piccole dimensioni della traslucenza che limitano la riproducibilità della metodica. E' richiesta una considerevole esperienza ecografica da parte dell'operatore, una strumentazione di alto livello ed una tecnica molto accurata.(8, 10, 11) Una ONLUS internazionale con sede in Inghilterra, la Fetal Medicine Foundation (www.fetalmedicine.com), si è imposta come il principale centro di riferimento offrendo agli operatori un programma di accreditamento con controlli di qualità periodici.

Un problema particolare è rappresentato dai feti con traslucenza nucale aumentata che hanno un cariotipo normale. Nella maggior parte dei casi l'accumulo di fluido si risolve ed i bambini sono normali alla nascita. Ma l'incremento è spesso associato a patologie sottostanti, soprattutto cardiopatie, ernia diaframmatica e displasie scheletriche.(12) In uno studio recente la prevalenza di cardiopatie congenite per 1000 nati era 14, 33 e 50 quando la traslucenza nucale era rispettivamente 2, 2,5 e 3 multipli della mediana (MoM).(13) La raccomandazione generale è che in tutti i casi in cui la traslucenza nucale misura 2,5 MoM o più (circa il 99° centile o in valore assoluto 3,5 mm) venga raccomandata un'ecocardiografia a venti settimane.(13) Naturalmente, una normale ecografia a 20 settimane non esclude

la presenza di una malformazione fetale. I feti con traslucenza aumentata nel primo trimestre, cariotipo normale e senza evidenza di anomalie ad un esame dettagliato eseguito a 20 settimane hanno un rischio residuo di anomalie strutturali/sindromi nell'ordine del 2-3%, che sale apparentemente al 10% quando a 20 settimane la plica nucale risulta ispessita.(12) Sono stati descritti nel corso degli anni altri reperti ecografici del primo trimestre che correlano con la presenza di trisomia 21, in particolare la assenza dell'osso nasale (1% dei feti normali contro il 70% dei feti perlomeno caucasici con trisomia 21),(14) l'insufficienza tricuspide(15) e la assenza/inversione di flusso telediastolico nel dotto venoso.(16) Il rilevamento di questi parametri è tuttavia difficile e il loro ruolo è discusso. Per consenso comune, un impiego sistematico sembra improponibile. E' stato suggerito che possano far parte di un esame di secondo livello, da proporre a pazienti che risultano avere, sulla base della traslucenza nucale e della biochimica materna, valori di rischio intermedi..

Test biochimici ed ecografici combinati

Combinando la traslucenza nucale e marcatori biochimici di trisomia 21 la precisione nel calcolo del rischio aumenta considerevolmente.(17, 18) Tuttavia, sono state proposte diverse modalità di integrazione.. Il termine *screening combinato* indica la combinazione di traslucenza nucale e biochimica del primo trimestre (di solito α -hCG libero e PAPP-A), che, e permette di riconoscere circa il 90% dei feti con trisomia 21 ad un tasso di falsi positivi del 5%.(19) Il termine *screening integrato* viene invece utilizzato per definire la combinazione di traslucenza nucale a 11-13 settimane e biochimica del secondo trimestre (hCG, AFP, uE3 ed eventualmente Inibina A). Il vantaggio del test integrato è una maggiore accuratezza (per un tasso di falsi positivi del 5%, la sensibilità è nell'ordine del 94%, oppure se si vuole ridurre il tasso dei falsi positivi al 2%, la sensibilità resta comunque elevata, intorno al 90%),(20) lo svantaggio è rappresentato dalla tardività e dalla incertezza sulla gestione dei casi con traslucenza aumentata. Sono state proposte altre modalità di screening. Il cosiddetto *test sequenziale* consiste nell'eseguire il test combinato, inviare le



pazienti a rischio elevato direttamente alla biopsia dei villi coriali, e sottoporre le pazienti a rischio basso ad un test integrato.(21) Infine, il *test contingente* consiste nell'effettuare un test combinato e dividere la popolazione in tre gruppi: le pazienti a rischio molto alto sono subito indirizzate alla diagnosi invasiva, quelle a rischio molto basso non vengono sottoposte ad alcuna ulteriore indagine e quelle a rischio intermedio sono indirizzate a un test integrato.(21) Diversi lavori suggeriscono che il test integrato sia il più efficace ed economico,(20, 21) anche se il test combinato ha il grande vantaggio della diagnosi precoce.

Conclusioni

Nella pratica comune, la assistenza prenatale comprende una discussione circa la possibilità che il feto sia affetto da una aneuploidia e l'offerta di una procedura per il calcolo del rischio. Al momento attuale, i test più efficaci sono basati sulla misurazione della traslucenza nucale a 11-13 settimana insieme alla determinazione di alcuni analiti nel primo trimestre, oppure nel secondo trimestre. Da un punto di vista organizzativo, la offerta sistematica di ecografie di alto livello e di esami del sangue per la ricerca di analiti non routinari rappresenta comunque una sfida considerevole. Dal punto di vista etico, una procedura di screening delle anomalie congenite genera controversie

Bibliografia

1. **Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH.** Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome. *Lancet* 1984;1(8383):926-9.
2. **Benacerraf BR, Frigoletto FD, Jr., Laboda LA.** Sonographic diagnosis of Down syndrome in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153(1):49-52.
3. **Getz L, Kirkengen AL.** Ultrasound screening in pregnancy: advancing technology, soft markers for fetal chromosomal aberrations, and unacknowledged ethical dilemmas. *Soc Sci Med* 2003;56(10):2045-57.
4. **Wald NJ, Densem JW, Smith D, Klee GG.** Four-marker serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1994;14(8):707-16.
5. **Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A.** Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998;338(14):955-61.
6. **Laigaard J, Spencer K, Christiansen M, Cowans NJ, Larsen SO, Pedersen BN, Wewer UM.** ADAM 12 as a first-trimester maternal serum marker in screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006;26(10):973-9.
7. **Winter TC, Uhrich SB, Souter VL, Nyberg DA.** The "genetic sonogram": comparison of the index scoring system with the age-adjusted US risk assessment. *Radiology* 2000;215(3):775-82.
8. **Nicolaides KH.** Screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003;21(4):313-21.
9. **Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH.** UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet* 1998;351:343-6.
10. **Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJ.** Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101(9):782-6.
11. **Nicolaides KH, Heath V, Spencer K, Nix AB.** Nuchal translucency and gestational age. *Prenat Diagn* 2004;24(10):833-4; author reply 834-5.
12. **Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH.** Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192(4):1005-21.



13. **Simpson LL, Malone FD, Bianchi DW, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Saade G, Eddleman K, Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Tripp T, D'Alton ME.** Nuchal translucency and the risk of congenital heart disease. *Obstet Gynecol* 2007;109(2 Pt 1):376-83.
14. **Cicero S, Curcio P, Papageorgiou A, Sonek J, Nicolaides KH.** Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet* 2001;358(9294):1665-7.
15. **Falcon O, Faiola S, Huggon I, Allan L, Nicolaides KH.** Fetal tricuspid regurgitation at the 11 + 0 to 13 + 6-week scan: association with chromosomal defects and reproducibility of the method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27(6):609-12.
16. **Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaides KH.** Screening for chromosomal abnormalities at 10-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12(6):380-4.
17. **Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH.** A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13(4):231-7.
18. **Noble PL, Abaha HD, Snijders RJ, Sherwood R, Nicolaides KH.** Screening for fetal trisomy 21 in the first trimester of pregnancy: maternal serum free beta-hCG and fetal nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;6(6):390-5.
19. **Nicolaides KH, Bindra R, Heath V, Cicero S.** One-stop clinic for assessment of risk of chromosomal defects at 12 weeks of gestation. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002;12(1):9-18.
20. **Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK.** Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999;341:461-7.
21. **Wald NJ, Rudnicka AR, Bestwick JP.** Sequential and contingent prenatal screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006;26:769-777.